

Title	Diabetes Caused by Elastase-Cre-Mediated Pdx1 Inactivation in Mice(Abstract_要旨)
Author(s)	Kodama, Sota
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2017-03-23
URL	https://doi.org/10.14989/doctor.r13084
Right	
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	ETD

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	児玉 創太
論文題目	Diabetes Caused by Elastase-Cre-Mediated Pdx1 Inactivation in Mice (Elastase-Cre を用いて Pdx1 を不活化したマウスは糖尿病になる)		
(論文内容の要旨)			
<p>膵臓の内分泌組織と外分泌組織は、胎生期の膵管枝分かれ構造の定まった領域からほぼ同時に発生し、終生共存する。本研究では、内分泌組織の正常な発生と機能獲得に外分泌組織との共存が必要であるか否かを調べるために、胎生期からの外分泌組織形成が乏しい変異マウスを作成し、その内分泌組織の形成過程と生後の機能を調べた。</p> <p>Elastase-Cre を用いて、膵形成に必須の転写因子である Pdx1 を胎生期外分泌組織特異的にノックアウトすることで、外分泌低形成マウス (Pdx1cKO マウス) を作製した。同時に ROSA26r アリルを用いた lineage tracing を組み合わせることで、細胞運命を追跡した。Pdx1 をノックアウトしない control マウス出生 1 日時点の解析から、Elastase-Cre で lineage label 細胞の大多数は腺房細胞であり、内分泌細胞 lineage label 率は 0.44~1.30% にすぎないことから、十分な外分泌組織特異的な組み替えができていると判断した。Pdx1cKO マウスの膵臓は、胎生 12.5 日、14.5 日時点では control マウスの膵臓と肉眼的差異を認めなかったが、16.5 日以降は明らかな低形成を呈した。膵サイズの減少だけでなく、個々の腺房細胞の成熟遅延を認め、生後の外分泌機能不全をきたし、体重増加率は低下した。生後 28 日目に内分泌機能を評価したところ、空腹時高血糖に加え、腹腔内ブドウ糖負荷試験で明らかな耐糖能障害、インスリン分泌量の低下を呈し、糖尿病フェノタイプと判断した。</p> <p>Pdx1cKO マウスが糖尿病になった原因を調べるため、まずは胎生期膵形成過程を解析した。Elastase-Cre による組み替えは胎生 12.5 日より起こり、lineage label される細胞は 14.5 日時点で膵管枝分かれ構造の先端 (Tip) 領域に存在した。通常発生では、この時期の Tip 領域は Ptf1a 陽性であり、ここから外分泌細胞が発生し、Nkx6.1 陽性である幹 (Trunk) 領域から内分泌細胞が形成されることが知られている。Pdx1cKO マウスでは 14.5 日までに Tip 領域に存在する lineage 陽性細胞の Pdx1 タンパク質が消失していたが、興味深いことに、Tip 領域だけでなく、(Elastase-Cre の直接的影響を受けていない) Trunk 領域においてもアポトーシス細胞数の増加を認めた。Ptf1a、Nkx6.1 染色を行ったところ、Tip 領域の Ptf1a 陽性率が低下していただけでなく、Trunk 領域の Nkx6.1 陽性率までもが極端に低下していたことから、Pdx1cKO では内分泌細胞の発生母地そのものが分化異常を示していると判断された。結果的に胎生期 Ngn3 陽性内分泌前駆細胞数ならびにインスリン陽性細胞数の減少を来した。出生時の解析では、インスリン陽性細胞の成熟遅延を認めたが、1 ヶ月後には正常レベルまで回復していた。生後、通常発生で見られる膵島構築の獲得は不十分なまま経過し、増殖能が極めて低く、生後 28 日目の内分泌細胞数は control の約 11% に過ぎなかった。</p>			

<p>これらの結果から、膵内分泌組織は、胎生期発生過程および生後の機能獲得過程において、外分泌細胞由来の未知の因子によって細胞非自律的な制御を受けていると考えられる。膵内分泌組織の正常な発生と機能獲得には外分泌組織との共存が必要であると結論された。</p> <p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>膵臓の内分泌組織と外分泌組織は、胎生期の膵管枝分かれ構造の定まった領域からほぼ同時に発生し、終生共存する。本研究では、「内分泌組織の正常な組織形成と機能獲得には外分泌組織との共存が必要である」と仮説し、Elastase-Cre を用いた外分泌組織特異的 Pdx1 ノックアウトによる外分泌組織低形成マウス (Pdx1cKO マウス) を作製し、その内分泌組織形成過程と生後の内分泌機能を解析した。Pdx1cKO マウスの胎生期膵臓は、内分泌組織の形成母地である膵管領域の分化異常とアポトーシスの亢進を認め、内分泌前駆細胞数およびインスリン細胞数が減少していた。出生時のインスリン陽性細胞は成熟遅延を認めたが、1 ヶ月後の細胞成熟度は正常レベルまで回復していた。しかし、生後の内分泌細胞の増殖能が極めて低く、生後 28 日目には、空腹時高血糖に加え、腹腔内ブドウ糖負荷試験で明らかな耐糖能障害とインスリン分泌量の低下を呈し、糖尿病フェノタイプと判断された。</p> <p>これらの結果から、膵内分泌組織の正常な組織形成と機能獲得には外分泌組織との共存が必要であると結論され、外分泌組織由来の未知の因子によって細胞非自律的な制御を受けていると考えられた。</p> <p>以上の研究はこれまで解明されてこなかった胎生期膵臓形成から生後の機能獲得過程における外分泌-内分泌連関を示しており、膵発生・生理学に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成29年1月20日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。</p>
要旨公開可能日： 年 月 日 以降